

10-1001

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ISOLAT ACTINOMYCETES DARI RIZOSFER PADI (*Oryza sativa*) TERHADAP *Salmonella typhosa* DAN *Staphylococcus aureus*

Ambarwati<sup>1</sup>, Tanti Azizah S<sup>2</sup>, Langkah Sembiring<sup>3</sup> dan Subagus Wahyuono<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Prodi Kesehatan Masyarakat FIK Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>3</sup>Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

<sup>4</sup>Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

E-mail : ambarwati7@yahoo.com

### ABSTRAK

Actinomycetes merupakan anggota bakteri yang dipromosikan sebagai penghasil zat antimikrobal terbesar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi Actinomycetes dari rizosfer padi (*Oryza sativa*) yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella typhosa* dan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menghasilkan 17 isolat Actinomycetes, 8 isolat diantaranya mampu menghasilkan zat antibakteri. Diantara 8 isolat tersebut, satu isolat mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, yaitu NRPR 13 yang menghambat *Salmonella typhosa* (dengan diameter daerah hambatan 14 mm) dan *Staphylococcus aureus* (12 mm). Tiga isolat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa*, yaitu NRPR 14 (11 mm), NRPR 62 dan NRPR 67 (masing-masing 10 mm). Dan empat isolat mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, yaitu RPR 15 (14 mm), NRPR 11 (17 mm), NRPR 33 (11 mm) dan NRPR 46 (16 mm). Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer padi berpotensi menghasilkan zat antibakteri.

**Kata kunci :** Actinomycetes, Zat Antibakteri, *S. typhosa*, *S. aureus*.

### ABSTRACT

Actinomycetes is one of the number of bacteria that is promised as the largest antimicrobial producer. The aim of the research were to isolate and identify Actinomycetes from rhizosphere of *Oryza sativa* that had a potential as antibacterial producer and could inhibit the growth of *Salmonella typhosa* and *Staphylococcus aureus*. From this research were found 17 isolates Actinomycetes, among 8 isolates, one isolate could inhibit the growth of two test bacteria, namely NRPR 13 that could inhibit *Salmonella typhosa* (inhibition zone diameter 14 mm) and *Staphylococcus aureus* (12 mm). Three isolates could inhibit only *Salmonella typhosa* growth, namely NRPR 14 (11 mm), NRPR 62 and NRPR 67 (10 mm respectively). And four isolates could inhibit only *Staphylococcus aureus* growth, namely RPR 15 (14 mm), NRPR 11 (17 mm), NRPR 33 (11 mm) and NRPR 46 (16 mm). From this research it could be concluded that 8 isolates Actinomycetes that was isolated from the rhizosphere of *Oryza sativa* that potentially as antibacterial producer.

**Key words :** Actinomycetes, Antibacterial, *S. typhosa*, *S. aureus*.

### PENDAHULUAN

*Salmonella typhosa* (*S. typhosa*) merupakan bakteri penyebab tifus dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan salah satu bakteri penyebab gastroenteritis (termasuk diare). Tipus atau demam tifoid merupakan penyakit menular dan akut dengan masa inkubasi umumnya 10-14 hari. Gejala tipus meliputi demam, perut kembung, sukar buang air besar, pusing, lesu, ruam, tidak bersemangat, tidak nafsu makan, mual dan muntah. Penyakit ini biasanya parah, dan bila tidak segera ditangani akan berlangsung selama beberapa minggu dan penderita dapat meninggal.

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan gastroenteritis (Budiyanto, 2004). *S. aureus* umumnya menyebabkan penyakit yang berasal dari makanan, karena bakteri ini menghasilkan racun yang dapat menimbulkan penyakit. Enterotoksin dari *S. aureus* berfungsi pada penerima di usus yang meneruskan impuls ke pusat medula.

Pengobatan untuk penyakit infeksi umumnya menggunakan antibiotik, namun beberapa bakteri telah resisten terhadap antibiotik yang telah ada. Berdasarkan hasil penelitian Sudiyo, *et al.*



(2008) diketahui selama kurun waktu dua tahun hampir semua *S. aureus* resisten terhadap Penisilin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menemukan zat yang dapat menghambat atau mematikan bakteri.

Saat ini banyak penelitian yang difokuskan pada kelas Actinomycetes, yang dipromosikan sebagai bakteri yang mampu menghasilkan zat antimikrobia terbesar. Data dari ALD (*Antibiotic Literature Database*) Italia menyebutkan di antara 8000 zat antimikrobia, 45,6% dihasilkan oleh anggota genus *Streptomyces*, 16% dari anggota Actinomycetes lain dan sisanya dari jamur dan bakteri lain (Lazzarini *et al.*, 2000).

Ambarwati, *et al.* (2010) berhasil mengisolasi *Streptomyces* dari rhizosfer jagung (*Zea mays*) dan berhasil menemukan 23 isolat, 9 isolat diantaranya mampu menghambat bakteri *Bacillus subtilis* dan 5 isolat mampu menghambat *S. aureus*. Di antara kelima isolat satu isolat (RNJ14) mampu menghambat *S. aureus* dengan kuat (32,33 mm), namun demikian tidak satupun isolat yang mampu menghambat *Eschericia coli* dan *S. typhimurium*.

Sebanyak 28 isolat Actinomycetes telah berhasil diisolasi dari Laut Karrwar, India, 15 isolat mampu menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan 5 isolat dapat menghambat bakteri *S. typhi* (Naikpatil and Rathod, 2011). Penelitian Sweetline, *et al.* (2012) berhasil mengisolasi Actinomycetes dari mangrove, 17 isolat di antara 38 isolat mampu menghasilkan zat antibakteri. Delapan isolat mampu menghambat *Staphylococcus sp.* dan 3 isolat dapat menghambat bakteri *Salmonella sp.*

Ambarwati, *et al.* (2012) juga berhasil mengisolasi Actinomycetes dari rizosfer padi (*Oryza sativa*). Delapan belas isolat dihasilkan dari penelitian ini, empat isolat di antaranya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, yaitu : isolat RPR 8, dengan diameter daerah hambatan 11 mm, RPR 15 (18 mm), NRPR 6 (16 mm), serta NRPR 46 (21 mm), namun demikian tidak ada satupun isolat yang mampu menghambat *Eschericia coli*. Untuk mengetahui kemampuan isolat Actinomycetes yang diisolasi dari rizosfer padi dalam menghambat bakteri *S. typhosa* dan *S. Aureus*, diperlukan penelitian.

## METODE PENELITIAN

### 1. Jenis Penelitian dan Sampel tanah

Jenis penelitian ini adalah eksplorasi dengan pemeriksaan laboratorium. Sampel tanah diambil dari rizosfer padi di lima titik yang berbeda di sawah Rojoniten, Ngemplak Boti, Kartasura, Sukoharjo.

### 2. Isolasi dan Purifikasi

Dilakukan pengenceran sampel sampai  $10^{-5}$ . Dari tingkat pengenceran  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$  diambil 0,1 ml dan diinokulasikan secara *surface plate* pada media Starch-casein Agar dan media Raffinosa-histidin Agar. Media yang telah diinokulasi diinkubasikan pada suhu 25°C selama empat hari sampai dua minggu (Sembiring *et al.*, 2000). Koloni yang menunjukkan kenampakan berbeda dipurifikasi pada media Starch-casein Agar.

### 3. Pewarnaan Gram

Dari hasil purifikasi dilakukan pewarnaan gram yang dilakukan berdasarkan prosedur Prescott *et al.*, (1999).

### 4. Uji Potensi Isolat sebagai Penghasil Antibiotik

Isolat-isolat yang telah dipurifikasi diujicobakan pada bakteri uji, yaitu *S. Thyposa* sebagai wakil bakteri gram negatif serta *S. aureuss* sebagai wakil bakteri gram positif. Media yang digunakan *Nutrient Agar* (oxoid) dengan metode agar blok (Nedialkova dan Naidenova, 2005).

## HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### Hasil isolasi dan purifikasi

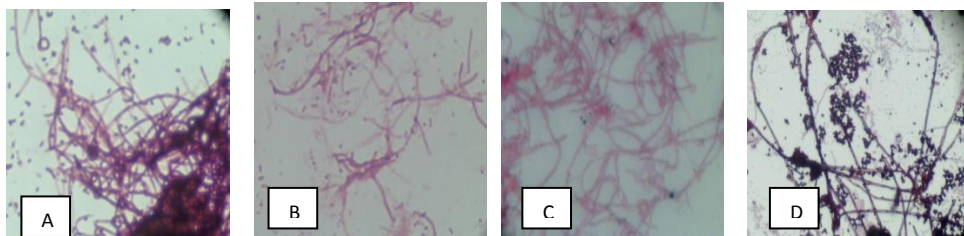
Penelitian ini menggunakan media Raffinosa-histidin Agar (RhA). Raffinosa merupakan sumber karbon bagi Actinomycetes (Antonova-Nikolova *et al.*, 2005;). Selain menggunakan media selektif untuk pertumbuhan Actinomycetes, pada penelitian ini juga dilakukan pre treatment, yaitu suspensi sampel tanah dipanaskan dulu pada suhu 50°C selama 10 menit (Sembiring, 2002), hal ini dilakukan untuk mencegah pertumbuhan bakteri lain. Sedangkan untuk mencegah pertumbuhan kapang maka ditambahkan cyclohexamide sebagai antifungi (Sembiring, 2000). Hal ini dilakukan



untuk menghindari terjadinya kerancuan, karena secara morfologi Actinomycetes mirip dengan fungi, yaitu sama-sama memiliki miselium. Berdasarkan hasil isolasi dan purifikasi diperoleh sebanyak 17 isolat. Identifikasi Actinomycetes dilakukan dengan melihat koloni isolat yang kering.

### Hasil pewarnaan gram

Selain melihat koloninya, identifikasi dilakukan juga dengan pewarnaan gram untuk mengidentifikasi morfologi sel Actinomycetes. Hasil pewarnaan gram disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram

A. Isolat RPR 15, B. Isolat NRPR11,  
C. Isolat NRPR 13, D. Isolat NRPR46

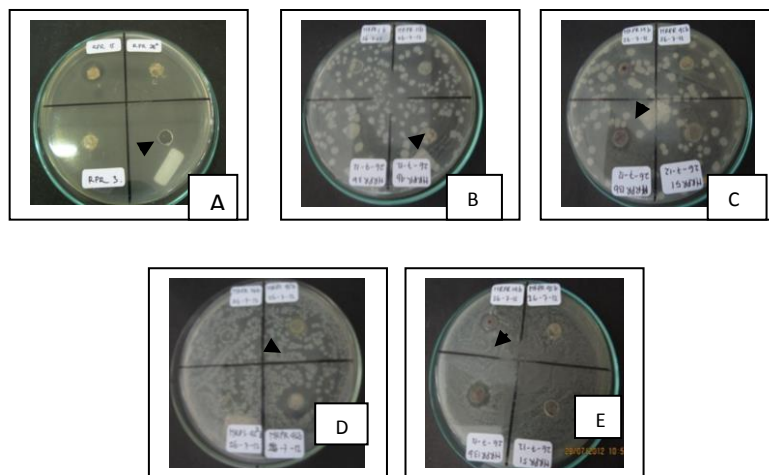
### Hasil uji penghambatan terhadap bakteri uji

Uji antibakteri pada bakteri uji dilakukan dengan metode agar blok. Berdasarkan Tabel 1. dapat diketahui bahwa dari 17 isolat, 8 isolat (47%) di antaranya mampu menghasilkan zat antibakteri. Diantara 8 isolat tersebut, satu isolat mampu menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji, yaitu NRPR 13 yang menghambat *Salmonella typhosa* (dengan diameter daerah hambatan 14 mm) dan *Staphylococcus aureus* (12 mm). Tiga isolat mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhosa*, yaitu NRPR 14 (11 mm), NRPR 62 dan NRPR 67 (masing-masing 10 mm). Dan empat isolat mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, yaitu RPR 15 (14 mm), NRPR 11 (17 mm), NRPR 33 (11 mm) dan NRPR 46 (16 mm). Dengan demikian ke-8 isolat tersebut berpotensi sebagai penghasil zat antibakteri. Isolat RPR 15 dan isolat NRPR 46 selain mampu menghambat *S. aureus* juga mampu menghambat pertumbuhan *B. Subtilis* (Ambarwati, *et al.*, 2012). Hasil uji penghambatan isolat Actinomycetes terhadap *S. typhosa* dan *S. aureus* disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 2 berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Potensi Isolat sebagai Penghasil Antibiotik

No	Kode isolat	Diameter daerah hambatan (mm) yang dihasilkan oleh isolat terhadap bakteri uji	
		<i>S. typhosa</i>	<i>S. aureus</i>
1	RPR3	0,00	0,00
2	RPR8	0,00	0,00
3	RPR15	0,00	<b>14,00</b>
4	RPR28	0,00	0,00
5	RPR35	0,00	0,00
6	RPR36	0,00	0,00
7	RPR38	0,00	0,00
8	RPR40	0,00	0,00
9	RPR42	0,00	0,00

10	NRPR11	0,00	<b>17,00</b>
11	NRPR12	0,00	0,00
12	NRPR13	<b>14,00</b>	<b>12,00</b>
13	NRPR14	<b>11,00</b>	0,00
14	NRPR33	0,00	<b>11,00</b>
15	NRPR46	0,00	<b>16,00</b>
16	NRPR62	<b>10,00</b>	0,00
17	NRPR67	<b>10,00</b>	0,00



Gambar 2. Penghambatan Isolat terhadap Bakteri Uji

- A. Penghambatan Isolat RPR 15 terhadap *S. aureus*
- B. Penghambatan Isolat NRPR 11 terhadap *S. aureus*
- C. Penghambatan Isolat NRPR 13 terhadap *S. aureus*
- D. Penghambatan Isolat NRPR 46 terhadap *S. aureus*
- E. Penghambatan Isolat NRPR 13 terhadap *S. typhosa*

Berdasarkan ciri koloninya yang kering, dan hasil pewarnaan gram (Gambar 1), menunjukkan morfologi batang bercabang, warna ungu dan termasuk bakteri gram positif, maka ke-8 isolat tersebut dapat dikategorikan sebagai isolat Actinomycetes. Menurut Nedialkova dan Naidenova (2005), bila diameter daerah hambatan sebesar 7 – 15 mm, maka aktivitas penghambatannya dikategorikan lemah, 16 – 25 mm dikategorikan sedang, dan lebih dari 25 mm dikategorikan kuat. Oleh karena itu enam isolat tersebut tingkat penghambatannya terhadap bakteri uji dikategorikan lemah (RPR 15, NRPR 13, NRPR 14, NRPR 33, NRPR 62 dan NRPR 67. Sedangkan dua isolat lainnya mempunyai penghambatan dengan kategori sedang, yaitu NRPR 11 dan NRPR 46.

Penelitian Gurung, *et al.* (2009) telah berhasil mengisolasi sebanyak 79 isolat Actinomycetes dari tanah di Kalapatthar, 13 isolat (16,5%) di antaranya berkemampuan menghasilkan zat antibakteri pada screening lanjutan. Diketahui pula 3 isolat dapat menghambat bakteri *S. aureus* multi resisten dengan kuat (daerah hambatan lebih dari 20 mm) yaitu K.6.3., K.14.2, dan K.58.5. Sedangkan penelitian Sharma, *et al.* (2011) telah menemukan sebanyak 134 isolat Actinomycetes telah berhasil

diisolasi dari tanah yang diambil dari Punjab dan Himachal Pradesh, 51 isolat (38%) berpotensi sebagai penghasil antibiotik. Lima isolat di antaranya mampu menghambat bakteri *S. typhi*, yaitu A26 dengan diameter daerah hambatan 14,6 mm, A27 (13 mm), N23 (18 mm), 2A (19 mm) dan R3YS (24,6 mm).

Bila dibandingkan dengan kedua penelitian di atas maka dari segi persentase isolat yang mampu menghasilkan zat antibakteri, maka isolat dari rizosfer Padi (47%) lebih berpotensi menghasilkan zat antimikrobia. Namun dari segi kekuatan penghambatan, maka isolat *Actinomycetes* dari tanah lebih kuat tingkat penghambatannya.

Menurut Mutschler (1991), mekanisme kerja antibakteri yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* adalah dengan menghambat sintesis protein. Menurut Suwandi (1993) antibakteri yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis protein akan mempunyai daya antibakteri yang sangat kuat. Namun demikian, dari segi sifat toksisitas selektif, antibiotik jenis ini mempunyai toksisitas selektif relatif rendah. Hal ini disebabkan karena pada sel hospes juga terjadi sintesis protein, sehingga antibiotik tersebut juga dimungkinkan dapat mempengaruhi sintesis protein pada sel hospes.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan di atas dapat disimpulkan bahwa dari rizosfer Padi dapat ditemukan 8 isolat *Actinomycetes* yang berpotensi sebagai penghasil antibakteri yang dapat menghambat *S. typhosa* dan *S. aureus* dengan kategori lemah dan sedang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, C.J. Soegihardjo dan Sembiring L, 2010. Isolasi dan Identifikasi *Streptomyces* dari Rizosfer Jagung (*Zea mays* L.) yang Berpotensi sebagai Penghasil Antibiotik. *Jurnal Biota*. ISSN 0853-8670. Terakreditasi Dikti Vo. 15, No. 1, Februari 2010
- Ambarwati, Sujono, T., A., Sembiring, L., dan Wahyuono, S. 2012. Keanekaragaman Isolat *Actinomycetes* Penghasil Zat Antibakteri dari Rizosfer Padi (*Oriza sativa*). *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas*. FMIPA UNS 10 November 2012.
- Antonova-Nikolova, S., Tzekova, N., and Yocheva, L. 2005, Taxonomy of *Streptomyces* sp. Strain 3B, *Journal of Culture Collection*, 4 : 36-42.
- Budiyanto, M. A. K. 2004. *Mikrobiologi Terapan*. UMM Press, Malang.
- Gurung, T., D, Sherpa, C., Agrawal, V., P, and Lekhak, B. 2009. Isolation and Characterization of *Actinomycetes* from Soil Samples of Kalapatthar, Mount Everest Region. *Nepal Journal of Science and Technology* 10:173-182.
- Lazzarini, A., Cavaletti, L., Toppo, G. dan Marinelli, F. 2000. Rare Genera of *Actinomycetes* as Potential Producer of New Antibiotics. *Antonie van Leeuwenhoek*, 78 (3-4): 399-405.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat, Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi*. Edisi Kelima. Alih Bahasa Widiyanto, M. B. & Ranti, A. S. Penerbit ITB, Bandung.
- Naikpatil, S., V and Rathod, J., L. 2011. Antimicrobial and Cytotoxic Activity of *Actinomycetes* from Karwar Coast, West Coast of India. *World Journal of Science and Technology*, 1(1): 07-10.
- Nedialkova, D. and Naidenova, M. 2005. Screening the Antimicrobial Activity of *Actinomycetes* Strains Isolated from Antarctica. *Journal of Culture Collections*, 4 : 29-35.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., and Klein, D. A. 1999. *Microbiology*. Fourth Edition. WCB McGraw-Hill, Boston.
- Sembiring, L., Ward A. C. and Goodfellow, M. 2000. Selective Isolation and Characterisation of Members of the *Streptomyces violaceusniger* Clade Associated with the Roots of *Paraserianthes falcataria*. *Antonie van Leeuwenhoek Journal* 78 (3-4) : 353-366.
- Sembiring, L. 2002. *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi untuk Mahasiswa S2*. Laboratorium Mikrobiologi. Fakultas Biologi. UGM, Yogyakarta.
- Sharma, D., Kaur, T., Chadha, B., S. and Manhas, R., K. 2011. Antimicrobial Activity of *Actinomycetes* Against Multidrug Resistent *Staphylococcus aureus*, *E. Coli* and Various Other Pathogens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 10 (6): 801-808
- Sudibyo, E., S., Rohmawati, E., Munira, dan Febriana S., A., 2008. *Berkala Kesehatan Klinik*, Vol. XIV, No. 2, Desember 2008:98-102.



Sutriyanto, E. 2011. Indonesia Peringkat tertinggi Infeksi. *Tribunnews*, Selasa 20 Desember 2011.  
Suwandi, U. 1993. Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik. *Cermin Dunia Kedokteran* 89 (48).  
Sweetline, C., Usha, R., and Palaniswamy, M. 2012. Antibacterial Activity of Actinomycetes from Pichavaram Mangrove of Tamil Nadu. *Applied Journal of Hygiene* 1 (2): 15-18.

## **DISKUSI**

**Penanya 1: Utami Sri Hastuti**

**Pertanyaan :**

- a. Apakah metode yang digunakan dalam penelitian ini (dilusi padat/cair)?
- b. Apakah dalam penelitian ini menggunakan kontrol abiotik?

**Jawaban:**

- a. Metode yang digunakan adalah agar blok (dilusi agar) karena metode ini lebih sederhana (tidak memerlukan fermentasi terlebih dahulu).

Pada uji antibakteri tidak digunakan kontrol antibiotik. Antibiotik pembanding digunakan pada proses kromatografi lapis tipis (KLT).

